нениям подвергаются и некоторые преганглионарные нервные волокна, у которых происходит разрушение миелинового слоя, появление миелиноподобных телец и скопление филаментов [рис. 9-10]. Такая структурная перестройка не может не отразиться на проводящей функции нервного волокна.

Однако необходимо учитывать, что развитие деструктивных процессов в ганглионарных структурах при старении не носят массовый характер. Главным образом имеют место признаки компенсаторно-приспособительного процесса. Выявлено неодинаковое соотношение данных изменений по отделам многокамерного желудка. Более всего гипертрофтрованных нейронов с нарушением ультраструктуры выявляется в рубце и книжке, а клеток с компенсаторно-приспособительными процессами – в сетке и сычуге.

Выводы

Процессы старения нервной ткани ганглиев в разных отделах многокамерного желудка овец сопровождается гетерохронностью.

Инволюционные изменения проявляются уменьшением в ганглиях количества нервных клеток, гипертрофией тела и гиперплазией отростков.

Максимальные нарушения ультраструктуры выявлены в крупных гипертрофированных нейронах.

Адаптационно-компенсаторные процессы сопровождаются активизацией дифференцировки мелких (резервных нейробластов), увеличением количества средних активно функционирующих клеток, при росте объема их цитоплазмы, ядра, повышении содержания нуклеиновых кислот..

РЕЗЮМЕ

Представлены морфологические особенности старения нервной ткани стенки желудка овец, которые характеризуются уменьшением удельной площади специфических ганглионарных структур, нарушением ультраструктуры нервных клеток и их проводникового аппарата.

SUMMARY

Presented morphological features of aging of the nervous tissue of the stomach wall of sheep, which are characterized by a decrease in the specific area of specific ganglion structures, a violation of the ultrastructure of nerve cells and their conductor apparatus.

Литература

1. Бушукина О.С. Закономерности развития ганглиев межмышечного нервного сплетения желудка овец / О.С. Бушукина, О.Т. Муллакаев // Ученые записки Казанской государственной ветеринарной академии им. Н.Э. Баумана. - Казань, 2008. – Т.192. – С. 239-242.
2. Ноздрачев А.Д. Автономная нервная система / А.Д. Ноздрачев, Т.Т. Абдуллин, В.Б. Зайцев, Е.В. Коледаева, А.Б. Панфилов. – Киров: Кировская гос. мед. академия, 2004. – 96 с.
3. Фролькис В.В. Старение мозга / В.В. Фролькис. – Л.: Наука, 1991. – 241 с.

Контактная информации об авторах для переписки

Бушукина О.С. – д.в.н., профессор кафедры морфологии и физиологии животных. 430010, г. Саранск, РМ, ул. Ворошилова, дом 4, кв. 426. Т.д.: (8342) 32-81-97, т.м.: (8937) 513-56-72, e-mail: mgu.mila.1965@mail.ru.

Валькова В.В. – аспирант кафедры морфологии и физиологии животных

УДК: 619:611.835.87: 612.815]-092.9

Т.Н. Варсегова

(Федеральное государственное учреждение «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. академика Г.А. Илизарова Росмедтехнологий», г. Курган)

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬШЕБЕРЦОВОГО НЕРВА СОБАК

Ключевые слова: большеберцовый нерв, морфометрия, стереология, информационный анализ.

Введение

В экспериментальных исследованиях по поиску более совершенных пространственно-временных режимов дистракционного остеосинтеза в качестве опытных животных наиболее часто ис-

пользуются взрослые беспородные собаки. Удлинение голени сопровождается реактивными изменениями большеберцового нерва. Для определения степени отклонения его морфологических и морфометрических характеристик от нормы возникает необходимость сравнения с аналогичными параметрами нервов интактных собак. В немногочисленных работах приводятся результаты морфологического и морфометрического исследования миелиновых волокон лицевого [9], локтевого [3, 7] срединного, мышечно-кожного, лучевого и седалищного [3] нервов клинически здоровых молодых взрослых собак, большеберцовых нервов кроликов разных возрастных групп [8]. Данные о морфологических и морфометрических исследованиях большеберцового нерва взрослых беспородных собак в доступной литературе найти не удалось, что и послужило целью данной работы.

Материалы и методы исследования

Большеберцовые нервы 10 интактных взрослых беспородных собак (возраст 1-3 года, вес 18-23 кг) на уровне средней трети голени закрепляли на твердой основе (с целью предотвращения деформации), резецировали, фиксировали в течение недели в охлажденной смеси равных объемов 2% растворов глутарового и параформальдегидов на фосфатном буфере (pH 7,4) с добавлением 0,1% пикриновой кислоты.

Часть материала промывали в проточной воде и готовили в микротоме-криостате поперечные и продольные срезы толщиной 25 мкм, монтировали их на предметных стеклах, для выявления нервных проводников применяли импрегнацию азотнокислым серебром по пунктам 6-10 методики А.К. Коломийцева, Ю.Б. Чайковского, Т.Л. Терещенко [2].

Часть материала постфиксировали в 1% растворе тетраоксида осмия с 1,5% красной кровяной солью, дегидратировали в этаноле возрастающей концентрации и заливали в аралдит. Поперечные полутонкие (0,5-1,0 мкм) срезы получали на ультратоме “Nova” (LKB, Швеция), окрашивали метиленовым синим и основным фуксином по Б. Уикли [5]. В каждом препарате с помощью аппаратно-программного комплекса “ДиаМорф” (Москва) оцифровывали полноцветные изображения не менее чем 500 мякотных нервных волокон (30-40 полей зрения под объективом 100, масляная иммерсия). С помощью тестовой решетки равноудаленных точек [6] в программе “Adobe Photoshop 3,0” рассчитывали стереологические параметры [4]: объемную плотность нервных волокон и эндоневрия. Определяли численные плотности безмиелиновых (NA_{amnf}) и миелиновых нервных волокон (NA_{mnf}) в 1 мм^2, долю (%) реактивно-деструктивно измененных мякотных проводников (Deg%). Рассчитывали отношение численной плотности безмиелиновых волокон к миелиновым (NA_{amnf}/NA_{mnf}) и ядерный индекс (J_{nuc}), как процентную долю ядросодержащих профилей мякотных нервных волокон крупного калибра (более 7 мкм диаметром) в выборке из 200 и более волокон. В программе «ВидеоТесТ-Мастер» (Санкт-Петербург) измеряли средние диаметры мякотных нервных волокон (D_{mnf}), их аксонов (D_{ax}), определяли фактор формы мякотных волокон (F_{mnf}) и их аксонов (F_{ax}), рассчитывали число G (отношение D_{ax}/D_{mnf}), среднюю толщину миелиновой оболочки (t_m), строили гистограммы их распределения по диаметрам с шагом 1 мкм. Определяли численную плотность эндоневральных микрососудов в 1 мм^2.

Ультраструктурные исследования проводили при помощи сканирующего электронного микроскопа «JSM-840». С этой целью фрагменты фиксированных в альдегидной смеси большеберцовых нервов обрабатывали по специальной методике с помощью «Камфена»*: промывали в проточной воде, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации, пропитывали расплавленным «Камфеном» (3,3 диметил–2–метиленбициклогептаном) при t°=51°С и высушивали на воздухе при комнатной температуре. Лезвием отсекали столбики высотой 1 мм, а в оставшемся кусочке нервного ствола выделяли пучки волокон, рассекали периневрий и при помощи пинцетов готовили расщипанные препараты.

Информационный анализ на основании распределения миелиновых нервных волокон по диаметрам с вычислением энтропии по Шеннону (H, бит), относительной энтропии (h), избыточности (R,%) и организации (бит) проводили в программе AtteStat версия 1.0 (7) в электронных таблицах Microsoft Excel 97.

* Рационализаторское предложение Н.С. Мигалкин, Е.А. Наумов, Н.К. Чикорина, Е.В. Осипова «Способ высушивания биологических объектов для сканирующей электронной микроскопии». ФГУ “РНЦ «Восстановительная травматология и ортопедия» им. академика Г.А. Илизарова Росмедтехнологий”, 2002 г.

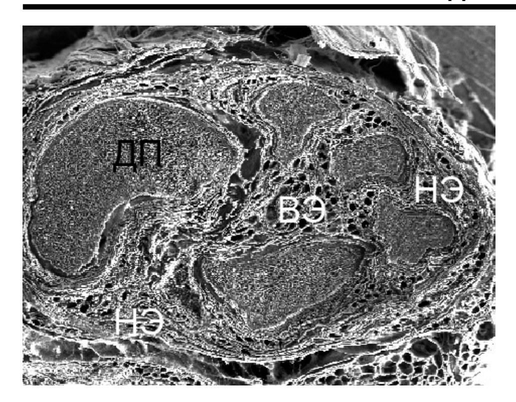


Рис. 1. Интактный большеберцовый нерв: НЭ – наружный эпиневрий, ВЭ – внутренний эпиневрий, ДП – доминирующий пучок нервных волокон. Тотальный поперечный срез. СЭМ. Увеличение 50.

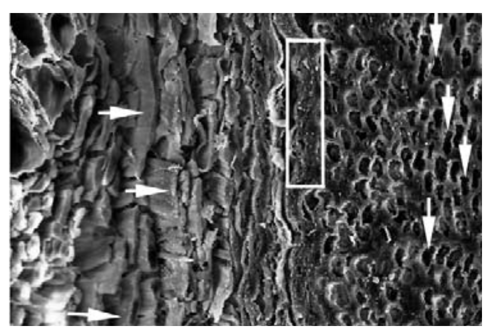


Рис. 2. Ориентация коллагеновых волокон и нервных проводников в интактном нерве: горизонтальные стрелки - толстые пучки коллагеновых волокон эпиневрия, ориентированные вдоль пучка нервных волокон; вертикальные - эндоневральные трубки; рамка - периневрий с прослойками коллагена. СЭМ. Увеличение 500

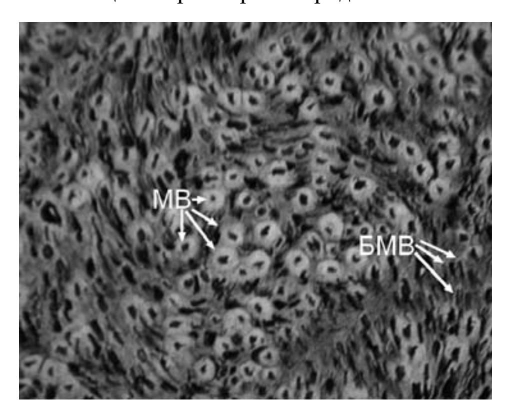
Результаты исследования

Большеберцовый нерв собаки относится к смешанным многопучковым нервам. Хорошо выраженный эпиневрий покрывает ствол нерва снаружи, объединяя все его пучки и отграничивая их от окружающих тканей. Внутренний эпиневрий, заполняющий все промежутки между отдельными пучками нервных волокон, представляет собой типичную рыхлую соединительную ткань; наружный эпиневрий, окружающий нервный ствол в целом, по периферии несколько уплотнен (рис.1).

Клеточный состав эпиневрия интактного нерва малочислен: встречаются клетки фибробластического ряда, главным образом фиброциты, периваскулярные клетки, реже макрофаги и тучные клетки. Жировая ткань является составной частью эпиневрия и содержится в нем в значительном количестве.

Ассоциации нервных пучков, окруженные общим периневрием представляют собой пучки (фасцикулы) первого порядка, а более мелкие их составляющие - пучки второго порядка. Внутренний слой периневрия представлен ламеллами периневральных клеток, расположенных концентрическими слоями, разделенными тонкими прослойками коллагена. Наружная часть состоит из плотной волокнистой оформленной соединительной ткани с ориентированными преимущественно вдоль длинной оси нерва пучками коллагеновых волокон (рис. 2).

Внутриствольное строение индивидуально изменчиво: у одной и той же собаки в правой и левой конечностях на уровне средней трети голени большеберцовый нерв может содержать разное количество пучков (от 2 до 8). Клеточный интрафасцикулярный состав отличается от эпиневрия главным образом благодаря присутствию шванновских клеток, входящих в состав нервных волокон. Для зрелого интактного нерва присутствие свободных шванновских клеток в эндоневрии неха-



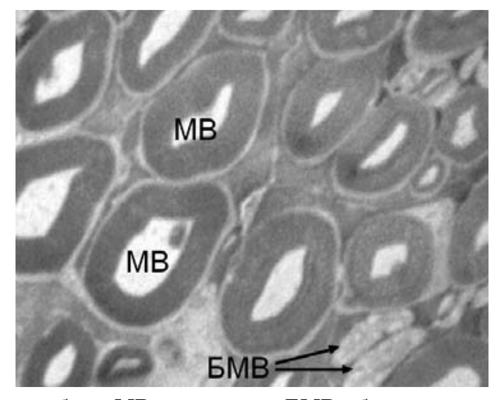
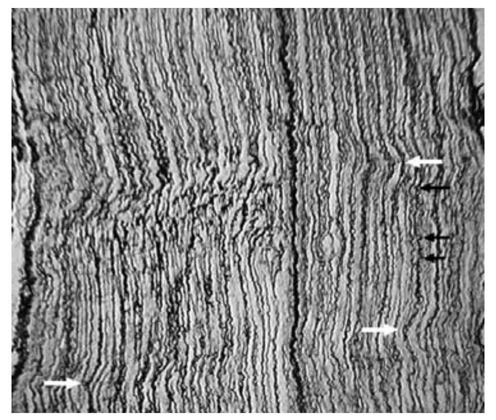


Рис. 3. Волокна в интактном большеберцовом нерве собаки: МВ – мякотные, БМВ - безмякотные волокна. Слева – поперечный криостатный срез, импрегнация азотнокислым серебром. Об. 16, ок. 12,5х. Справа - поперечный полутонкий срез, окраска метиленовым синим и основным фуксином. Об. – 100, ок. – 12,5х.



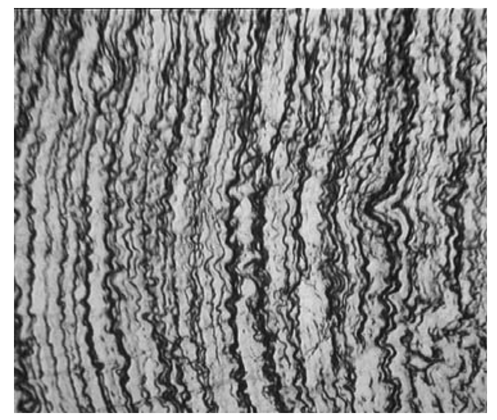


Рис. 4. Извитость нервных проводников первого (белые стрелки) и второго (черные стрелки) порядков. Продольный криостатный срез, импрегнация азотнокислым серебром. Слева: об. – 2,5; ок. 12,5х. Справа: об. – 16; ок. – 12,5х.

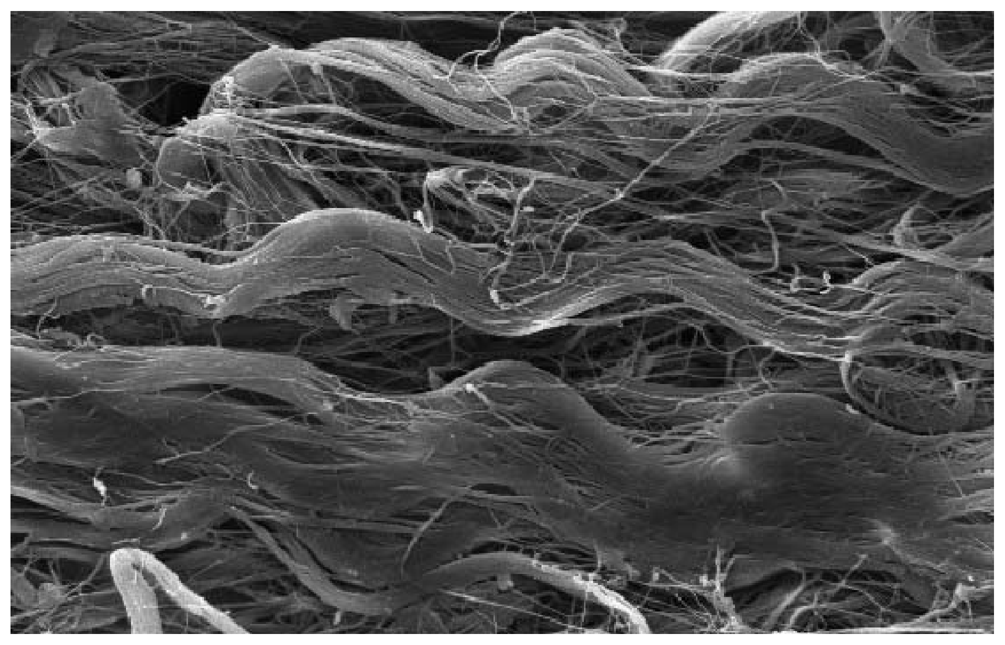


Рис. 5. Извитость нервных проводников второго порядка. Продольный расщепленный препарат интактного большеберцового нерва. СЭМ. Увеличение 100.

рактерно. Встречаются отдельные фибробласты, крайне редко - макрофаги и тучные клетки.

Входящие в состав большеберцового нерва пучки отличаются между собой по соотношению количества миелиновых и безмиелиновых проводников, а также по содержанию эндоневрия. Безмиелиновые волокна встречаются во всех пучках наряду с миелиновыми.

В отдельных мелких пучках миелиновых волокон насчитывается меньше, чем безмиелиновых, в других пучках наоборот - подавляющее число волокон являются мякотными. В пучках средней величины, особенно в самом крупном, преобладают мякотные проводники (рис. 3).

Исходя из этого, при сравнительных количественных исследованиях важно морфометрировать волокна аналогичных пучков. Наиболее удобными для таких целей являются доминантные (самые крупные) фасцикулы (рис.1), резко отличающиеся от других по размерам.

В продольных гистологических срезах определяется синусоидальная извитость нервных проводников большеберцового нерва собаки. В криостатных импрегнационных срезах (рис. 4) и на сканограммах (рис. 5) обнаруживается синхронный волнообразный ход нервных проводников – извитость первого порядка.

Кроме того, каждое нервное волокно в отдельности также обладает синусоидальной волнистостью – извитостью второго порядка.

Объемная плотность нейральных элементов колеблется в пределах 75,8 – 82,1% и составляет в среднем 78,2±0,59%, а эндоневрия – 21,8±0,59%. Численная плотность мякотных волокон достигает 19426±649 волокна, а безмякотных - 10347±726 в 1 мм². Размерные характеристики миелиновых проводников имеют следующие значения: D_{mnf} - 6,75±0,011мкм, D_{ax} - 4,63±0,13мкм, t_m – 1,06±0,02мкм, G – 0,686±0,013. NA_{amnf}/NA_{mnf} составило 0,542±0,04, J_{nuc} – 3,12±0,13%, F_{mnf} – 0,790±0,008, F_{ax} – 0,659±0,015.

Среди волокон нормального строения встречаются единичные проводники с признаками расслоения, либо вакуолизации миелина, с неравномерной толщиной и неровными контурами миелина, его выпячиванием и впячиванием (миелиновые «грыжи»), вызывающим деформацию аксона. Единичные проводники имеют признаки аксональной и валлеровской дегенерации. Deg% составляет 1,64±0,20%.

Миелиновые волокна имеют диаметры от 2 до 13 мкм (волокна диаметром менее 2 мкм, и диаметром 14-17 мкм единичны, их доля менее 1%), распределены бимодально, первая мода находится в диапазоне 3,1-4,0 мкм, вторая – 8,1-9,0 мкм (рис.6).

Доля мелких (диаметр 1,0-4,0 мкм) проводников составляет 22,0±2,0%, средних (4,1-7,0 мкм) – 26,8±2,6%, крупных (более 7,1 мкм) – 52,0±1,8%.

Информационный анализ распределения мякотных волокон по спектру калибров обнаружил следующие значения интегральных критериев: H составила 3,312 бит, h – 0,828, R – 9,892% и организация – 0,688 бит. Высокие значения энтропии по Шеннону обусловлены гетероморфностью популяции мякотных волокон, а также значительным количеством (более 70%) высокодифференцированных быстропроводящих миелиновых проводников среднего и крупного калибров.

Кровеносная система большеберцового нерва представлена магистральными сосудами (рис. 7), лежащими продольно обычно в местах перехода наружного эпиневрия во внутренний, циркулярно ориентированными сегментарными сосудами и двумя – эпи- и эндоневральным микроциркуляторными руслами. Первое – обычного для рыхлой неоформленной соединительной ткани строения с неправильно округлыми ячейками, тогда как во втором ячейки вытянуты вдоль нерва.

Как и в других нервах, периневрий большеберцового нерва не имеет сосудов обменного типа, его прободают лишь идущие в эндоневрий ветви магистральных и циркулярных артерий и вен. Морфометрическое исследование микроциркуляторного русла эндоневрия показало, что численная плотность микрососудов составляет в среднем 182±22 в 1 мм².

Выводы

Большеберцовые нервы интактных беспородных собак имеют хорошо развитую сосудистую систему, представленную эпи- и эндоневральным микроциркуляторными руслами.

Нервные стволы многопучковые, со-

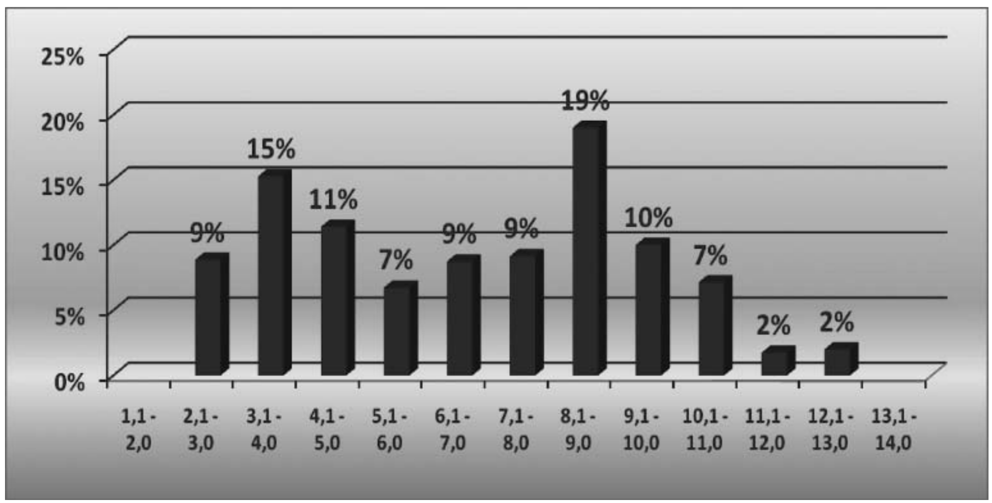
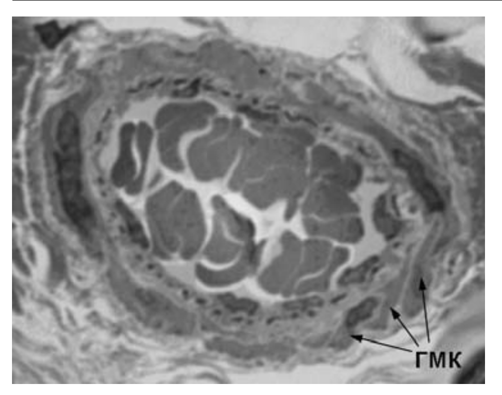


Рис. 6. Гистограмма распределения миелиновых нервных волокон по диаметрам в большеберцовом нерве интактных собак. Ось абсцисс – размерные классы волокон, ось ординат – доли волокон каждого класса в%.



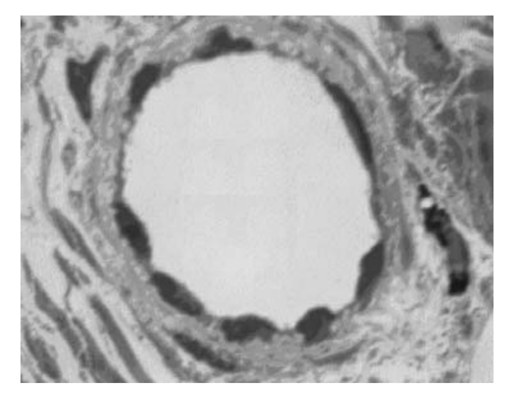


Рис. 7. Артериола (слева) и венула (справа) в эпиневрии интактного большеберцового нерва. ГМК – гладкомышечные клетки. Поперечный полутонкий срез, окраска метиленовым синим и основным фуксином. Об. – 100; ок. – 12,5х.

держат пучки первого и второго порядков.

Нервные проводники имеют синхронный волнообразный ход - синусоидальную извитость первого и второго порядков.

Популяция мякотных волокон гетероморфна, со значительным количеством (более 70%) высокодифференцированных быстропроводящих миелиновых проводников среднего и крупного калибров, что обуславливает высокие значения энтропии по Шеннону.

По мере уменьшения диаметра фаскикул в них снижается доля миелиновых и возрастает доля безмиелиновых волокон, что необходимо учитывать в гистоморфометрических исследованиях.

Заключение

Полученные качественные и количественные показатели большеберцового нерва интактных взрослых беспородных собак послужат показателями нормы при изучении патологических изменений нервной системы и различного рода экспериментальных воздействий.

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты исследования большеберцовых нервов 10 интактных взрослых (1-3 года) беспородных собак. Нервные стволы многопучковые, содержат пучки первого и второго порядков, нервные проводники имеют синхронный волнообразный ход, популяция мякотных волокон гетероморфна, со значительным количеством (более 70%) высокодифференцированных быстропроводящих миелиновых проводников среднего и крупного калибров, что обуславливает высокие значения энтропии по Шеннону.

SUMMERY

The results of studying tibial nerves in 10 intact adult (1-3 years) mongrel dogs are demonstrated. Nerve trunks are multifascicular, containing the fascicles of the first and second orders, nerve conductors are of synchronous wavy passage, the population of medullary nerve fibers is heteromorphic, with major proportion (more than 70%) of high-differentiated, fast-conducting myelin conductors of middle and large caliber, that gives rise to Shennon entropy high values.

Литература

1. Автандилов Г.Г., Яблучинский Н.И., Губенко В.Г. Системная стереометрия в изучении патологического процесса. М.: Медицина, 1981. 192 с.
2. Коломийцев А.К., Чайковский Ю.Б., Терещенко Т.Л. Быстрый метод импрегнации азотнокислым серебром элементов периферической нервной системы, пригодный для целлоидиновых и парафиновых срезов // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 1981. Том LXXXI, № 8. С. 93-96.
3. Мельман Е.П., Левицкий В.А., Павлович В.Г. Биометрическая характеристика коррелятивных внутриствольных невровазальных соотношений периферических нервов собаки // Архив анатомии. 1981. № 5. С. 57-66.
4. Непомнящих Л.М., Лушникова Е.Л., Непомнящих Г.И. Морфометрия и стереология гипертрофии сердца. Новосибирск: Наука, 1986. 301 с.
5. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. М: Мир, 1975. 325с.
6. Щудло М.М., Ступина Т.А., Щудло Н.А. Количественный анализ метахромазии суставного хряща в телепатологии // http://csc.ac.ru/news/2004_special/04.zip Известия Челябинского научного центра. 2004. Специальный выпуск к 60-летию РАМН. С. 17-22.
7. Braund K.G., McGuire J.A., Lincoln C.E. Age-related changes in peripheral nerves of the dog. II. A morphologic and morphometric study of cross-sectional nerve // Vet Pathol. 1982. Jul, № 19 (4). P. 379-398.
8. Dolapchieva S., Eggers R., Kuhnel W. Automatic image analysis of the postnatal growth of axons and myelin sheaths in the tibial and peroneal nerves of the rabbit // Anat Anz. 2000. № 182 (2). P. 133-142.
9. Morphologic and morphometric study of the facial nerve in clinically normal adult dogs / Braund K.G. [et al.] // Am J Vet Res. 1991. № 52 (11). P.1879-1882.

Контактная информации об авторах для переписки

Варсегова Татьяна Николаевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник экспериментального отдела травматологии и ортопедии Федерального государственного

учреждения «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. академика Г.А. Илизарова Росмедтехнологий», г. Курган. Контактные телефоны: (3522) 50-64-17 – домашний телефон, (3522) 41-42-44 – рабочий телефон. E-mail: varstn@mail.ru.

УДК: 577.152:611.62:616.6:619

В.Е. Соболев

(Санкт-Петербургская Государственная академия ветеринарной медицины)

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ НА МОРФОЛОГИЮ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦИСТИТА

Ключевые слова: экзогенный, гликозаминогликаны, морфология мочевого пузыря, цистит

Введение

Гликозаминогликановый слой на поверхности мочевого пузыря изучен у человека, крупного рогатого скота и некоторых видов животных [3,4,5,8,9]. В ряде исследований [6,7,11] установлено, что этой слой обеспечивает защиту слизистой оболочки мочевого пузыря от агрессивных компартментов мочи и тем самым предупреждает развитие в нем воспалительных реакций. Выявлен положительный терапевтический эффект применения различных лекарственных форм на основе гликозаминогликанов при лечении циститов человека и животных [10,12]. В этой связи изучение влияния гликозаминогликанов на морфологию мочевого пузыря в условиях воспалительного процесса представляет несомненный интерес.

Материалы и методы

В настоящем исследовании изучалось влияние перорального приема комплексного препарата гликозаминогликанов на морфологию мочевого пузыря в условиях экспериментального цистита. В качестве биологической модели использовались белые лабораторные крысы в возрасте 1 года. Опытные и контрольные группы формировались с соблюдением принципа пар-аналогов по полу и весовым кондициям. Животные были разделены на 3 группы по 3 особи в каждой. Вес животных перед постановкой эксперимента составил: первая группа 309±39,88 г; вторая группа 285,66±23,46 г; третья группа 305,33±29,02г.

В течение 14 дней до начала эксперимента крысы 1 и 2 групп с водой получали 12 мг комплексного препарата, содержащего сульфат хондроитина и глюкозамин. Животные 3 группы препарат не получали. В дальнейшем у крыс 1 и 2 групп воспалительный процесс мочевого пузыря вызывали путем трансабдоминального введения в полость мочевого пузыря 9% водного раствора уксусной кислоты. Раствор вводили дважды с интервалом 7 дней. С целью лучшего выявления мочевого пузыря за 15 минут до введения раствора кислоты животным 1 и 2 групп внутримышечно инъецировали 1 мг фуросемида. Животным 3 группы в мочевой пузырь вводили стерильный 0,9% раствор натрия хлорида.

Спустя 8 часов с момента начала эксперимента и далее ежедневно проводили учет клинических симптомов у крыс всех групп. Животным 1 и 2 групп продолжали давать препарат с комплексом гликозаминогликанов в указанной дозе 12 мг до завершения исследований. Через 10 дней после повторного введения раствора в мочевой пузырь крысам 3 группы в мочевой пузырь введен раствор кислоты в дозе аналогичной для крыс 1 и 2 групп. Спустя 48 часов проведена эвтаназия крыс всех групп. Проведено вскрытие брюшной полости и отбор мочевых пузырей с фиксацией их тканей в 10% нейтральном формалине для гистологического исследования. Гистологические срезы стенки мочевых пузырей крыс толщиной 5 - 7 мкм готовились на санном микротоме. От каждого мочевого пузыря получали 3 серии срезов с окраской гематоксилин-эозином, окрашиванием по Хейлу, и ШИК - реакцией.

Морфометрический анализ структур мочевого пузыря на срезах проводили с использованием Окуляр-микрометра МОВ 1-16 на микроскопе Биолам Р11.